

- from patients with chronic kidney disease: UPLC-MS/MS versus ELISA[J]. Toxins(Basel), 2016, 8(5):149.
- [36] Horowitz JD, Hereszty T. An overview of plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in health and disease and in clinical studies: methodological considerations[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2007, 851(1/2):42-50.
- [37] Yokoro M, Suzuki M, Yatani M, et al. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay system for the determination of asymmetric dimethylarginine using a specific monoclonal antibody [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2012, 76(2):400-403.
- [38] Zinelli A, Sotgia S, Usai MF, et al. Improved method for plasma ADMA, SDMA, and arginine quantification by

• 综述 •

PDGF 及相关信号通路致骨髓组织纤维化的研究进展*

蒋艳 综述, 冀林华[△] 审校
(青海大学, 青海西宁 810000)

关键词: 血小板衍生因子; 信号通路; 骨髓组织纤维化

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.20.027

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)20-2873-03

骨髓中的造血组织胶原增生, 被纤维组织替代, 多见于骨髓增殖性疾病和骨髓增生异常综合征, 还可见于白血病等血液系统恶性疾病^[1-3]。另外一些非血液系统疾病, 如严重感染、低氧环境等也可引起继发性骨髓组织纤维化^[4-5], 其中血小板衍生因子(PDGF)在骨髓组织纤维化中发挥了重要作用, 它是一种重要的生长因子, 能激活有丝分裂, 促使成纤维细胞增生及分泌Ⅰ型胶原及Ⅲ型胶原, 形成组织纤维化^[6], 骨髓组织纤维化严重影响疾病预后, 近年来, 关于 PDGF 致组织纤维化的研究甚多, 现综述如下。

1 PDGF 的生理学特征及作用

PDGF 属于血管内皮生长因子家族, 是一种糖蛋白, 由骨髓巨核细胞合成, 贮存于血小板 α -颗粒中, 在血液凝固过程中, 可释放入血清, 是血清中主要的促细胞分裂剂, 它能刺激成纤维细胞生长、分裂, 并能分泌胶原蛋白, 在一定浓度范围内能刺激骨髓成纤维细胞增生, 可加速成纤维细胞的增殖, 刺激网状纤维或胶原纤维的产生, 从而形成骨髓纤维化^[7]。但是 PDGF 必须与受体结合才能发挥生物效应, PDGF 与受体结合, 通过激活 PDGFR 激酶活性及下游信号通路, 从而将信号传入细胞内, 经级联式放大瀑布效应调控细胞的生命活动。Niino 等^[8]研究了 18 例急性巨核细胞白血病患者, 其中 11 例患者中 PDGF 高度表达, 说明 PDGF 与骨髓组织的纤维化相关。除此之外, 继发性红细胞增多症患者长期低氧刺激也可促进 PDGF 过度表达, 而刺激骨髓组织纤维增生。由此推断 PDGF 在骨髓组织纤维化的发生发展中可能发挥着重要的作用。

2 PDGF 相关信号通路

2.1 MAPK-ERK 通路 丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)是 PDGF 致组织纤维化的最主要通路, 可将细胞外刺激信号传递到细胞核引起一系列细胞生物学反应。PDGF 与细胞表面相

- field-amplified sample injection capillary electrophoresis UV detection[J]. Anal Bioanal Chem, 2011, 399(5):1815-1821.
- [39] Linz TH, Snyder CM, Lunte SM. Optimization of the separation of NDA-derivatized methylarginines by capillary and microchip electrophoresis[J]. J Lab Autom, 2012, 17(1):24-31.
- [40] Trapp G, Sydow K, Dulay MT, et al. Capillary electrophoretic and micellar electrokinetic separations of asymmetric dimethyl-L-arginine and structurally related amino acids: quantitation in human plasma[J]. J Sep Sci, 2004, 27(17/18):1483-1490.

(收稿日期: 2017-04-23 修回日期: 2017-06-26)

应的蛋白酪氨酸激酶受体结合, 使受体上的酪氨酸残基磷酸化→结合含有 SH2 结构域的生长因子受体结合蛋白 2(Grb2)→结合 Ras 蛋白, 在膜下形成 PDGF 受体(PDGFR)、Grb2、Ras 蛋白复合体, 从而激活 Ras 蛋白, 激活后的 Ras 蛋白启动 MAPK 三级激酶级联反应, 最终激活 ERK(ERK), 活化的 ERK 转位到细胞核中, 磷酸化 E1K-1、C-myc、C-fos、NF- κ B 和 AP-1 等转录因子及许多调控细胞周期的蛋白, 从而发挥生物效应。有文献报道, PDGF 能够刺激肺成纤维细胞Ⅰ型、Ⅲ型胶原蛋白表达增加, 同时上调磷酸化 ERK1/2 蛋白的表达, 证实 PDGF 可能通过介导的 ERK1/2 信号转导通路的激活, 进而促进肺纤维化的形成与发展^[9]。国外文献报道, PDGF 与 PDGFR 结合, 可诱导 ERK1/2 的磷酸化, 而 CD248 可调节 ERK1/2 的磷酸化, 可致 c-fos 表达, 介导 PDGF 下游通路, 而致肝纤维化^[10]。Wang 等^[11]通过动物实验证实 mRNA-9 可以直接作用 PDGF- β 受体, 减少其蛋白水平, 作用于其下游基因的蛋白水平, 并且能作用于 ERK1/2, 从而可以达到抑制心肌纤维化的可能。体外试验中, 双氢青蒿素(DHA)可下调 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)、 α 1-Ⅰ型胶原蛋白和纤连蛋白表达水平, 可能与 PDGF- β 受体介导的 ERK 途径有关, 表明 DHA 经由 PDGF- β 受体、ERK 通路抑制肝纤维化^[12]。

2.2 Keap1-Nrf2-ARE 信号通路 Nrf2 是细胞氧化应激反应中的关键因子, 是 CNC 转录因子家族成员, Nrf2 能通过调节氧化还原敏感的转录激活蛋白和核转录因子 κ B, 下调促纤维化因子的表达。在氧化物质或异型物质的刺激下, Nrf2 与 Keap1 解离, 易位到细胞核中, 与 Maf、JunD、c-Jun 等结合形成杂化二聚体, 进一步与下游Ⅱ相解毒基因和抗氧化酶基因启动子中的 ARE 位点结合, 激活下游启动子, 转录大量相关的下游蛋白, 从而发挥生物作用。有文献报道, 绿原酸可以预防四

* 基金项目: 青海省科技计划项目(2014-HZ-808)。

△ 通信作者, E-mail: 13997244508@163.com。

氯化碳所致的肝纤维化,通过激活 Nrf2 介导的通路改善抗氧化能力,并且可通过抑制 NOX/ROS/MAPK 通路而抑制 PDGF 诱导纤维化作用,绿原酸显著降低 CYP2E1 表达和增加核的 Nrf2 和 Nrf2 调节的抗氧化剂的基因(HO-1, GCLC 和 NQO1)的表达^[13]。刘理静等^[14]研究证实,中华猕猴桃果仁非饱和脂肪酸可能通过激活 Keap1/Nrf2 信号通路增加下游 SOD、CAT、GSH-Px 的表达,促进 ROS 清除,减轻肺组织脂质过氧化而抗大鼠肺纤维化。细胞因子信号转导抑制蛋白(SOCS),SOCS 家族对 JAK2 存在负反馈调节作用,以免信号通路持续开放造成细胞代谢失常和生理功能紊乱,是 JAK2 重要的抑制物。Kandhi 等^[15]通过动物实验证实 SOCS1 基因的缺陷可促进胶原蛋白、PDGF 基因的表达,促进肝纤维化发生。推断 PDGF 的表达可能与 Keap1-Nrf2-ARE 信号通路有关,参与组织的纤维化。

2.3 HH 通路 在哺乳动物 HH 信号通路主要是由 HH 配体 SHH、IHH,PTCH1、PTCH2、SMO 及下游的转录因子 GLI 家族组成^[16]。HH 与 PTCH 结合,解除对 SMO 的抑制,SMO 解除了 GLI 磷酸化等过程,从而使 GLI 以全长形式入核启动对靶基因的转录,当配体 HH 缺乏时,受体 PTCH 与 SMO 结合形成复合物,SMO 活性受抑制,转录因子 GLI 被磷酸化、泛素化及蛋白酶体截断,使 GLI 不能以全长形式入核,从而抑制对靶基因的转录^[17]。Kumar 等^[18]通过动物实验证实 HH 通路抑制剂和 miRNA 可抑制纤维化胶原蛋白 I 型和 IV 型、C-MYC、PDGF-β 和 PI3K/AKT 这些基因的上调,从而抑制肝纤维化。Hyun 等^[19]发现核转录因子 κB 信号通路能通过下调 miR-29 降低肝纤维化的胶原沉积,而 HH 通路则通过干扰核转录因子 κB 通路产生一系列级联反应最终导致肝纤维化。

2.4 Wnt/β-连环蛋白信号通路 Wnt 信号通路参与调控细胞的分化、癌变、凋亡及机体免疫、应激等生理病理过程。Wnt 信号通路的异常与各种纤维化疾病,如肝、肺、肾脏等组织器官纤维化的发生与进展关系密切。Wnt 信号通路能通过抑制胞质中的 β-连环蛋白(β-catenin)降解等作用来诱发 EMT 转换。Lin 等^[20]通过体外和体内试验得出橙皮苷能显著下调经 PDGF 处理的小鼠 α-SMA 和 α1-Ⅰ型胶原 mRNA 和蛋白表达的水平,同时还能抑制 β-连环蛋白和下游蛋白质,细胞周期素 D1 和 C-myc 基因的表达,推测橙皮苷可抑制 PDGF 诱导所致的肝纤维,可能是通过抑制 Wnt/β-连环蛋白信号传导途径。Xiao 等^[21]通过实验得出,维甲酸可以改善胰腺纤维化,其中 Wnt 和 β-连环蛋白水平显著下调,同时可下调 α-SMA 和 α1-Ⅰ型胶原,β-连环蛋白, TGF-β, PDGFR-β 的 mRNA 和蛋白水平,从而减少细胞外基质的沉积,从这些结果可推断维甲酸可能是通过抑制 Wnt/β-连环蛋白信号传导途径,而改善胰腺纤维化的作用。

3 PDGF 致骨髓纤维化的发病机制

PDGF 在骨髓纤维化中是一种重要的生长因子,它能激活有丝分裂,促使成纤维细胞进入增生及分泌 I 型胶原及 III 型胶原形成骨髓纤维化。有文献报道,IL-6、IL-1α,PDGF、TNF-α 和 TGF-β 能促进基质金属蛋白酶-1 基因表达,促进纤维化发生^[22]。Bedeckovics 等^[23]用免疫组化法测定正常和纤维化的骨髓组织中的 PDGFR-α 和 PDGFR-β 表达水平,发现 PDGFR-β 高度表达,并且先于网状和胶原纤维的产生,与骨髓纤维化的程度密切相关。有文献报道,PDGF-C 激活 TGFbeta/Smad3 信号途径调节肝星状细胞增殖,产生胶原蛋白,并最终致肝纤维化^[24],猜测 PDGF 可能与 TGF-β 存在信号通路交叉,共同可致纤维化。除此之外,PDGF/PDGFR-β 受体转导途径上调 CTGF 表达进而促进细胞外基质生成,可能与骨髓纤维化有

关。Zhang 等^[25]通过动物实验发现,原儿茶醛可下调成纤维生长因子 2、PDGF,α-SMA 和 HMGB1 表达,可能是通过调节 HMGB1/RAGE 途径,可改善博莱霉素诱导的肺纤维化大鼠的胶原沉积。经 PDGF 刺激后的 2 组小鼠模型中,姜黄素处理组的小鼠表现为 α-SMA、α1-Ⅰ胶原和纤黏蛋白的蛋白与 mRNA 表达下调,TIMP-1 表达下调和 MMP-2 的表达上调。姜黄素能够抑制 PDGF 诱导的肝星状细胞合成与分泌细胞外基质增加,促进细胞外基质降解,减少细胞外基质在肝脏中的沉积,进而发挥治疗肝纤维化的作用。另有研究也证实 PDGF 与受体结合启动多种蛋白级联磷酸化信号转导通路进一步促进肝星状细胞的活化与细胞外基质的沉积,可促进胶原蛋白的表达,促进组织纤维化^[26]。脾酪氨酸激酶抑制剂能抑制 PDGF-AB 诱导的 ERK 活化和培养的原代肾成纤维细胞的细胞增殖,能减少促纤维化因子胶原蛋白 I、胶原蛋白 IV、纤连蛋白、α-SMA、TGF-β1 和 PAI-1 等的表达^[27]。PDGF 致骨髓组织纤维化传导信号通路多,且各通路之间存在交叉且互相影响,共同促进组织纤维化。

4 结语

PDGF 是结缔组织生长的局部调节剂,可加速成纤维细胞的增殖和刺激网状纤维或胶原纤维的产生,它可以通过多条通路致组织的纤维。干扰素 α 可以抑制巨核细胞及骨髓成纤维细胞的生长,还可以通过抑制 PDGF 消除骨髓对 PDGF 的增殖反应。临幊上用干扰素 α 治疗原发性骨髓纤维化已取得一定疗效。也有临幊研究显示,甲磺酸伊马替尼和(或)联合沙利度胺、羟基脲等治疗骨髓纤维化取得了显著疗效,但是目前对于 PDGF 致骨髓组织纤维化的机制仍不明确,深入研究其发病机制,对指导临幊治疗,改善疾病预后意义重大。

参考文献

- [1] 关键虹,王晓宁.白血病继发骨髓纤维化的病理特征与疾病预后关系[J].中国实验血液学杂志,2013,21(2):311-314.
- [2] 常建华,马越.急性白血病并发骨髓纤维化患者网硬蛋白纤维含量分析[J].实用医学杂志,2000,16(4):292-293.
- [3] 王伟,尤婷玉,张励,等.慢粒进展为慢粒伴骨髓纤维化后急淋变 1 例实验室指标分析[J].临幊军医杂志,2010,38(2):221-223.
- [4] Guo L, Xu JM, Liu L, et al. Hypoxia-induced epithelial-mesenchymal transition is involved in bleomycin-induced lung fibrosis[J]. Biomed Res Int, 2015, 10(1155):1-10.
- [5] Cannito S, Paternostro C, Busletta C, et al. Hypoxia, hypoxia-inducible factors and fibrogenesis in chronic liver diseases[J]. Histol Histopathol, 2014, 29(1):33-44.
- [6] Yang C, Zeisberg M, Mosterman B, et al. Liver fibrosis: insights into migration of hepatic stellate cells in response to extracellular matrix and growth factors[J]. Gastroenterology, 2003, 124(1):147-159.
- [7] Borkham-Kamphorst E, van Roeyen RC, Ostendorf T, et al. Pro-fibrogenic potential of PDGF-D in liver fibrosis [J]. Hepatology, 2007, 46(6):1046-1074.
- [8] Niino D, Tsuchiya T, Tomonaga M, et al. Clinicopathological features of acute megakaryoblastic leukaemia: Relationship between fibrosis and platelet-derived growth factor[J]. Pathol Int, 2013, 63(3):141-149.
- [9] 罗玲,杨奕,徐洪,等. PDGF 介导的 ERK1/2 信号转导通路在大鼠矽肺纤维化形成中的作用[J].工业卫生与职业

- 病, 2011, 37(4): 193-198.
- [10] Wilhelm A, Aldridge V, Haldar D, et al. CD248/endosialin critically regulates hepatic stellate cell proliferation during chronic liver injury via a PDGF-regulated mechanism[J]. Gut, 2016, 65(7): 1175-1185.
- [11] Wang L, Ma LK, Fan H, et al. MicroRNA-9 regulates cardiac fibrosis by targeting PDGFR-beta in rats[J]. J Physiol Biochem, 2016, 72(2): 213-223.
- [12] Chen Q, Chen LY, Kong DS, et al. Dihydroartemisinin alleviates bile duct ligation-induced liver fibrosis and hepatic stellate cell activation by interfering with the PDGF-beta R/ERK signaling pathway[J]. Int Immunopharmacol, 2016, 34: 250-258.
- [13] Shi H, Shi A, Dong L, et al. Chlorogenic acid protects against liver fibrosis in vivo and in vitro through inhibition of oxidative stress[J]. Clin Nutr, 2016, 35(6): 1366-1373.
- [14] 刘理静, 钱红, 尹辉明, 等. 中华猕猴桃果仁非饱和脂肪酸通过激活 Keap1/Nrf2 信号通路增强肺纤维化大鼠抗氧化能力[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2016, 32(4): 479-483.
- [15] Kandhi R, Bobbala D, Yeganeh M, et al. Negative regulation of the hepatic fibrogenic response by suppressor of cytokine signaling 1[J]. Cytokine, 2016, 82(S1): 58-69.
- [16] Cigna N, Moshai EF, Brayer S, et al. The hedgehog system machinery controls transforming growth factor-β-dependent myofibroblastic differentiation in humans: involvement in idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Am J Pathol, 2012, 181(6): 2126-2137.
- [17] Teglund S, Toftgard R. Hedgehog beyond medulloblastoma and basal cell carcinoma[J]. Biochim Biophys Acta, 2010, 1805(2): 181-208.
- [18] Kumar V, Mondal G, Dutta R, et al. Co-delivery of small molecule hedgehog inhibitor and miRNA for treating liver fibrosis[J]. Biomaterials, 2016, 76: 144-156.
- [19] Hyun J, Choi SS, Diehl AM, et al. Potential role of Hedgehog signaling and microRNA-29 in liver fibrosis of
- IKK beta-deficient mouse[J]. J Mol Histol, 2014, 45(1): 103-112.
- [20] Lin X, Kong LN, Huang C, et al. Hesperetin derivative-7 inhibits PDGF-BB-induced hepatic stellate cell activation and proliferation by targeting Wnt/beta-catenin pathway [J]. Int Immunopharmacol, 2015, 25(2): 311-320.
- [21] Xiao WQ, Jiang WL, Shen J, et al. Retinoic acid ameliorates pancreatic fibrosis and inhibits the activation of pancreatic stellate cells in mice with experimental chronic pancreatitis via suppressing the Wnt/beta-Catenin signaling pathway[J]. PLoS One, 2015, 10(11): e0141462.
- [22] Inoue A, Obayashi K, Sonoda Y, et al. Regulation of matrix metalloproteinase-1 and alpha-smooth muscle actin expression by interleukin-1 alpha and tumour necrosis factor alpha in hepatic stellate cells[J]. Cytotechnology, 2017, 69(3): 461-468.
- [23] Bedekovics J, Kiss A, Beke L, et al. Platelet derived growth factor receptor-beta(PDGFR beta) expression is limited to activated stromal cells in the bone marrow and shows a strong correlation with the grade of myelofibrosis[J]. Virchows Archiv, 2013, 463(1): 57-65.
- [24] Lee JI, Wright JH, Johnson MM, et al. Role of Smad3 in platelet-derived growth factor-C-induced liver fibrosis [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2016, 310(6): 436-445.
- [25] Zhang L, Ji YX, Kang ZC, et al. Protocatechic aldehyde ameliorates experimental pulmonary fibrosis by modulating HMGB1/RAGE pathway[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2015, 283(1): 50-56.
- [26] 孔德松, 张自力, 雷娜, 等. 姜黄素对血小板衍生生长因子诱导活化的肝星状细胞细胞外基质的影响[J]. 中草药, 2013, 44(1): 70-75.
- [27] Ma FY, Blease K, Nikolic-Paterson DJ. A role for spleen tyrosine kinase in renal fibrosis in the mouse obstructed kidney[J]. Life Sci, 2016, 146: 192-200.

(收稿日期: 2017-04-24 修回日期: 2017-06-27)

· 综 述 ·

肺炎链球菌的实验诊断及防治研究进展^{*}

刘小花, 陈 涛 综述, 陈宇宁 审校

(四川省成都市新都区人民医院检验科, 四川成都 610500)

关键词: 肺炎链球菌; 实验诊断; 防治

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.20.028

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)20-2875-03

肺炎链球菌简称肺炎球菌, 在自然界中分布广泛, 可以在 20%~40% 孩童的鼻咽和 5%~10% 健康成人体内发现, 在某些特殊环境, 如人口集中的医院或军营等, 可发现更多数量的肺炎链球菌。肺炎链球菌在全世界范围内是一种非常重要的病原体, 可引起多种严重疾病, 如肺炎、中耳炎、脑膜炎、鼻窦炎及菌血症等^[1-2]。在发展中国家, 肺炎链球菌感染甚至可导致死亡^[3]。目前, 细菌培养还是临幊上诊断肺炎链球菌的主要方

法, 但是此方法检出率较低, 且受许多因素的影响。此外, 由于大量抗菌药物的广泛使用, 使肺炎链球菌的检出率更低^[4]。本文就近年来对肺炎链球菌的实验诊断与防治进展进行综述。

1 肺炎链球菌的实验诊断

1.1 细菌培养

1.1.1 血液培养 自动血培养仪报警后, 取出报警培养瓶及该患者的另侧培养瓶, 用一次性注射器抽取部分血培养液, 一

^{*} 基金项目: 四川省卫生厅科研课题(130534); 成都市新都区社会事业科技计划项目(2014.07)。